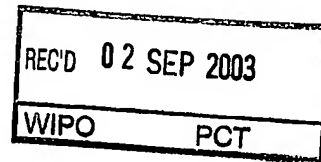


BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 103 05 531.2

Anmeldetag: 11. Februar 2003

Anmelder/Inhaber: Morphochem AG Aktiengesellschaft für
kombinatorische Chemie, München/DE

Bezeichnung: Tubulysinkonjugate

IPC: C 07 K, A 61 K

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 19. Juni 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

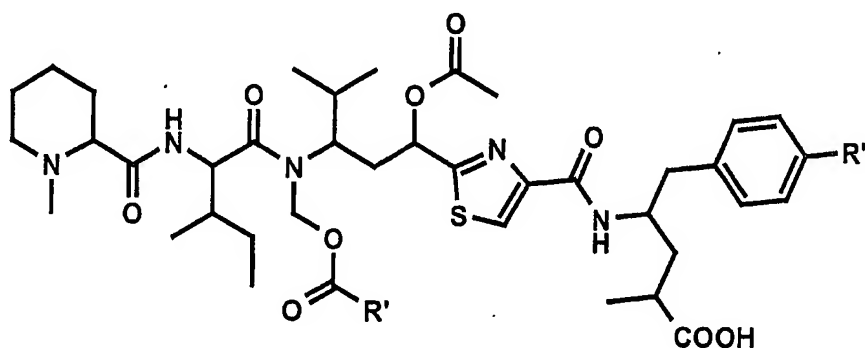
Wegner



Tubulysinkonjugate

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Tubulysin-
konjugate sowie deren Verwendung zur Behandlung von
5 Krebserkrankungen.

Die Tubulysine wurden erstmals von der Gruppe von Höfle
und Reichenbach (GBF Braunschweig) aus einer Kulturbrühe
von Stämmen des Myxobakteriums *Archangium gephyra*
10 isoliert (F. Sasse et al. J. Antibiot. 2000, 53, 879-885;
WO9813375; DE 10008089). Diese Verbindungen haben eine
ausgesprochen hohe cytotoxische Aktivität gegenüber
Säugetierzelllinien mit IC_{50} -Werten im picomolaren Bereich
und sind daher als potentielle Krebsmedikamente von
15 grossem Interesse.



Tubulysin A: $R' = CH_2CH(CH_3)_2$; $R'' = OH$

Tubulysin B: $R' = CH_2CH_2CH_3$; $R'' = OH$

Tubulysin C: $R' = CH_2CH_3$; $R'' = OH$

Tubulysin D: $R' = CH_2CH(CH_3)_2$; $R'' = H$

Tubulysin E: $R' = CH_2CH_2CH_3$; $R'' = H$

Tubulysin F: $R' = CH_2CH_3$; $R'' = H$

5

10

Die vorliegende Erfindung betrifft Konjugate der allgemeinen Formel **U-V-W**, wobei

20



25

X ein Sauerstoffatom, ein Schwefelatom, eine Gruppe der Formel NR^{13} oder $\text{CR}^{14}\text{R}^{15}$ ist;

Y ein Sauerstoffatom, ein Schwefelatom oder eine Gruppe der Formel NR^{16} ist und

- 5 die Reste $\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5, \text{R}^6, \text{R}^7, \text{R}^8, \text{R}^9, \text{R}^{10}, \text{R}^{11}, \text{R}^{12}, \text{R}^{13}, \text{R}^{14}, \text{R}^{15}$ und R^{16} unabhängig voneinander ein Wasserstoffatom, ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Heteroalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Heteroalkylcycloalkyl-, Heterocyclo-
- 10 alkyl-, Aralkyl- oder ein Heteroaralkylrest, oder zwei der Reste gemeinsam Teil eines Cycloalkyl- oder Heterocycloalkylringsystems sind,

V ein Linker und W ein Polymer ist.

15

- Der Ausdruck Alkyl bezieht sich auf eine gesättigte, geradkettige oder verzweigte Kohlenwasserstoffgruppe, die 1 bis 50 Kohlenstoffatome, vorzugsweise 1 bis 12 Kohlenstoffatome, besonders bevorzugt 1 bis 6
- 20 Kohlenstoffatome aufweist, z.B. die Methyl-, Ethyl-, Isopropyl-, Isobutyl-, tert-Butyl-, n-Hexyl-, 2,2-Dimethylbutyl-, n-Octyl-, Allyl-, Isoprenyl- oder Hex-2-enyl-Gruppe.

- 25 Die Ausdrücke Alkenyl und Alkynyl beziehen sich auf zumindest teilweise ungesättigte, geradkettige oder verzweigte Kohlenwasserstoffgruppen, die 2 bis 50 Kohlenstoffatome, vorzugsweise 2 bis 12 Kohlenstoffatome, besonders bevorzugt 2 bis 6 Kohlenstoffatome aufweisen,
- 30 z. B. die Allyl-, Acetylenyl-, Propargyl-, Isoprenyl- oder Hex-2-enyl-Gruppe.

Der Ausdruck Heteroalkyl bezieht sich auf eine Alkyl-, eine Alkenyl- oder eine Alkynyl-Gruppe, in der ein oder mehrere (bevorzugt 1, 2, 3, 4 oder 5) Kohlenstoffatome durch ein Sauerstoff-, Stickstoff-, Phosphor- oder Schwefelatom ersetzt sind (bevorzugt Sauerstoff oder Stickstoff), z.B. eine Alkyloxy-Gruppe wie z.B. Methoxy oder Ethoxy, oder eine Methoxymethyl-, Nitril-, Methylcarboxyalkylester-, Carboxyalkylester- oder 2,3-Dioxyethyl-Gruppe. Der Ausdruck Heteroalkyl bezieht sich des weiteren auf eine Carbonsäure oder eine von einer Carbonsäure abgeleitete Gruppe wie z. B. Acyl, Acyloxy, Carboxyalkyl, Carboxyalkylester z.B. Methyl-carboxyalkylester, Carboxyalkylamid, Alkoxycarbonyl oder Alkoxycarbonyloxy.

15

Der Ausdruck Cycloalkyl bzw. Cyclo- bezieht sich auf eine gesättigte oder teilweise ungesättigte cyclische Gruppe, die einen oder mehrere Ringe aufweist, die ein Gerüst bilden, welches 3 bis 14 Kohlenstoffatome, vorzugsweise 3 bis 10 Kohlenstoffatome enthält, z.B. die Cyclopropyl-, Cyclohexyl-, Tetralin- oder Cyclohex-2-enyl-Gruppe.

Der Ausdruck Heterocycloalkyl bzw. Heterocyclo bezieht sich auf eine Cycloalkylgruppe wie oben definiert, in der ein oder mehrere (bevorzugt 1, 2 oder 3) Kohlenstoffatome durch ein Sauerstoff-, Stickstoff-, Phosphor- oder Schwefelatom ersetzt sind und kann beispielsweise für die Piperidin-, Morpholin-, N-Methylpiperazin- oder N-Phenylpiperazin-Gruppe stehen.

30

Die Ausdrücke Alkylcycloalkyl bzw. Heteroalkylcycloalkyl beziehen sich auf Gruppen, die entsprechend den obigen Definitionen sowohl Cycloalkyl- bzw. Heterocycloalkyl-

wie auch Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl- und/oder Heteroalkylgruppen enthalten.

Der Ausdruck Aryl bzw. Ar bezieht sich auf eine
 5 aromatische Gruppe, die einen oder mehrere Ringe hat, und
 durch ein Gerüst gebildet wird, das 5 bis 14 Kohlen-
 stoffatome, vorzugsweise 5 oder 6 bis 10 Kohlenstoffatome
 enthält z.B. eine Phenyl-, Naphthyl-, 2-, 3- oder
 4-Methoxyphenyl-, 2-, 3- oder 4-Ethoxyphenyl-,
 10 4-Carboxyphenylalkyl- oder 4-Hydroxyphenyl-Gruppe.

Der Ausdruck Heteroaryl bzw. Heteroaromat bezieht sich
 auf eine Aryl-Gruppe, in der ein oder mehrere (bevorzugt
 1, 2 oder 3) Kohlenstoffatome durch ein Sauerstoff-,
 15 Stickstoff-, Phosphor- oder Schwefelatom ersetzt sind,
 z.B. die 4-Pyridyl-, 2-Imidazolyl-, 3-Pyrazolyl- und Iso-
 chinolinyl-Gruppe.

Die Ausdrücke Aralkyl bzw. Heteroaralkyl beziehen sich
 20 auf Gruppen, die entsprechend den obigen Definitionen
 sowohl Aryl- bzw. Heteroaryl- wie auch Alkyl-, Alkenyl-,
 Alkynyl- und/oder Heteroalkyl- und/oder Cycloalkyl-
 und/oder Heterocycloalkylgruppen enthalten, z.B. die
 Tetrahydroisochinolinyl-, Benzyl-, 2- oder 3-Ethyl-
 25 indolyl- oder 4-Methylpyridino-Gruppe.

Die Ausdrücke Alkyl, Alkenyl, Alkynyl, Heteroalkyl,
 Cycloalkyl, Heterocycloalkyl, Aryl, Heteroaryl, Aralkyl
 und Heteroaralkyl beziehen sich auch auf Gruppen, in
 30 denen ein oder mehrere Wasserstoffatome solcher Gruppen
 durch Fluor-, Chlor-, Brom- oder Jodatome oder OH, SH, NH₂
 oder NO₂-Gruppen ersetzt sind. Diese Ausdrücke beziehen
 sich weiterhin auf Gruppen, die mit unsubstituierten

Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Heteroalkyl-, Cycloalkyl-, Heterocycloalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Aralkyl- oder Heteroaralkyl-Gruppen substituiert sind.

- 5 Der Ausdruck Linker bezieht sich auf eine Gruppe, die dazu verwendet wird, Verbindungen der Formel (I) mit einem Polymer zu verbinden. Ein Linker kann eine direkte Bindung, eine Alkylen-, Alkenylen-, Alkinylen-, Heteroalkylen-, Arylen-, Heteroarylen-, Cycloalkylen-, Alkylcycloalkylen-, Heteroalkylcycloalkylen-, Hetero-
- 10 cycloalkylen-, Aralkylen- oder eine Heteroaralkylengruppe sein. Bevorzugt ist der Linker im Blut-Plasma stabil (insbesondere hydrolysestabil), metabolisch spaltbar und nach der Spaltung nicht toxisch.
- 15 Als Polymere kommen synthetische Polymere wie z. B. Polyethylenglycol (MW = 200, 300, 400, -30.000), Polyethylenglycol Dendrimere, Polyacrylsäure, Polylactid-co-glycolid, poly-D,L-lacticacid-p-dioxanone-
- 20 polyethylene glycol block copolymer (PLA-DX-PEG), Poly(ortho)ester, Polyglutamate, Polyaspartate, Polymer aus α - β -ungesättigten monomeren: (meth)acrylic acid, crotonic acid, maleic acid, maleic anhydride, fumaric acid, itaconic acid/anhydride, etc. comonomere umfassend:
- 25 Vinylether, Vinylester, Vinylamide, Olefine, Diallyl-dialkyl-ammonium-halogene, bevorzugt Vinylether, Poly-(diethylenglycoladipat), Polyethylenimin, Polyglycolid, Polyharnstoff, Polylimonen (=Polylimo), Poly(2-methyl-1,3-propylenadipat), Propfpolymere, Graft (Block-)
- 30 Polymere mit anderen Polymeren.

Weitere Beispiele für Linker und Polymere sind in G. T. Hermanson, Biokonjugate Techniques, Academic Press, San Diego, 1996 beschrieben.

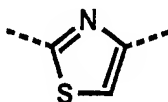
- 5 Verbindungen der Formel (I) können aufgrund ihrer Substitution ein oder mehrere Chiralitätszentren enthalten. Die vorliegende Erfindung umfasst daher sowohl alle reinen Enantiomere und alle reinen Diastereomere, als auch deren Gemische in jedem Mischungsverhältnis.

10

Bevorzugt ist X eine CH₂-Gruppe.

Wiederum bevorzugt ist Y ein Sauerstoffatom.

- 15 Weiter bevorzugt weist A die folgende Struktur auf:



- 20 Des weiteren bevorzugt sind R¹ und R³ zusammen Teil eines Cycloalkylrings; besonders bevorzugt weisen R¹ und R³ zusammen die Formel -(CH₂)₄- auf.

Weiter bevorzugt ist R² eine C₁-C₄ Alkylgruppe, besonders bevorzugt eine Methylgruppe.

- 25 Des weiteren bevorzugt sind R⁴, R⁵, R⁶ und R¹⁰ Wasserstoffatome.

Wiederum bevorzugt ist R⁷ eine Alkylgruppe; besonders bevorzugt eine Gruppe der Formel -CH(CH₃)CH₂CH₃.

Des weiteren bevorzugt ist R^8 ein Wasserstoffatom, eine Alkyl-, Alkenyl- oder eine Heteroalkylgruppe; besonders bevorzugt eine Gruppe der Formel $-CH_2OC(=O)R^{17}$, wobei R^{17} eine C_1 - C_6 Alkyl- oder eine C_1 - C_6 Alkenylgruppe ist.

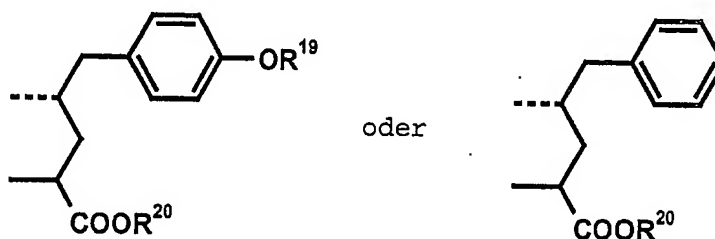
5

Wiederum bevorzugt ist R^9 eine Alkylgruppe; besonders bevorzugt eine Gruppe der Formel $-CH(CH_3)_2$.

10 Weiter bevorzugt ist R^{11} ein Wasserstoffatom oder eine Acetylgruppe.

Weiter bevorzugt ist R^{12} eine Gruppe der Formel NHR^{18} , wobei R^{18} eine Heteroaralkylgruppe ist.

15 Des weiteren bevorzugt weist R^{18} die folgenden Strukturen auf:



wobei R^{19} und R^{20} unabhängig voneinander Wasserstoffatome, Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Heteroalkylcycloalkyl-, Heterocycloalkyl-, Aralkyl- oder Heteroaralkylgruppen sind; besonders bevorzugt sind R^{19} und R^{20} Wasserstoffatome. Gegebenenfalls kann der Phenylring substituiert sein (z. B. durch eine NO_2 -Gruppe).

Besonders bevorzugt ist die Verbindung der Formel (I) Tubulysin A.

Weiter bevorzugt ist der Linker über die Reste R^8 , R^{11} , R^{19} oder R^{20} an Verbindungen der Formel (I) gebunden; besonders bevorzugt über R^{19} oder R^{20} .

5

Des weiteren bevorzugt ist das Polymer ein Polyethylen-glycol, das insbesondere über R^{20} an Tubulysin A gebunden ist.

- 10 Pharmakologisch akzeptable Salze, Solvate, Hydrate oder Formulierungen der hier beschriebenen Konjugate sind ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung. Beispiele für pharmakologisch akzeptable Salze der Verbindungen der Formel (I) sind Salze von physiologisch
- 15 akzeptablen Mineralsäuren wie Salzsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure oder Salze von organischen Säuren wie Methansulfonsäure, p-Toluolsulfonsäure, Milchsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Trifluoressigsäure, Zitronensäure, Bernsteinsäure, Fumarsäure, Maleinsäure
- 20 und Salicylsäure. Verbindungen der Formel (I) können solvatisiert, insbesondere hydratisiert sein. Die Hydratisierung kann z.B. während des Herstellungsverfahrens oder als Folge der hygroskopischen Natur der anfänglich wasserfreien Verbindungen der Formel (I) auftreten.

25

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen gemäß der vorliegenden Erfindung enthalten mindestens eine Verbindung der Formel (I) als Wirkstoff und fakultativ Trägerstoffe und/oder Adjuvantien.

30

Die therapeutische Verwendung der Verbindungen der Formel (I), ihrer pharmakologisch akzeptablen Salze bzw. Solvate und Hydrate sowie Formulierungen und pharmazeutischen

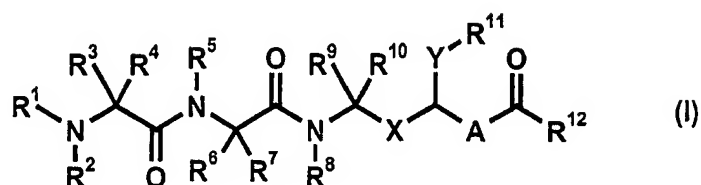
Zusammensetzungen liegt ebenfalls im Rahmen der vor-
liegenden Erfindung.

- Auch die Verwendung dieser Wirkstoffe zur Herstellung von
5 Arzneimitteln zur Behandlung von Krebserkrankungen ist
Gegenstand der vorliegenden Erfindung. Des weiteren sind
die vorliegenden Verbindungen bei der Vorbeugung und/oder
Behandlung von rheumatoider Arthritis, entzündlichen
Erkrankungen, Immunologisch bedingten Krankheiten (z. B.
10 Diabetes Typ 1), Autoimmunkrankheiten sowie weiteren
Tumorerkrankungen von großem Interesse. Im allgemeinen
werden Verbindungen der Formel (I) unter Anwendung der
bekannten und akzeptablen Modi, entweder einzeln oder in
Kombination mit einem beliebigen anderen therapeutischen
15 Mittel verabreicht. Solche therapeutisch nützlichen
Mittel werden bevorzugt parenteral, z.B. als injizierbare
Lösung verabreicht. Zur Herstellung von flüssigen
Lösungen kann man Arzneimittelträgerstoffe wie z.B.
Wasser, Alkohole oder wäßrige Salzlösungen verwenden. Die
20 pharmazeutisch verwendbaren Mittel können auch
Zusatzstoffe zur Konservierung, Stabilisierung, Salze zur
Veränderung des osmotischen Drucks, Puffer und
Antioxidantien enthalten.
- 25 Kombinationen mit anderen therapeutischen Mitteln können
weitere Wirkstoffe beinhalten, die gewöhnlich zur Be-
handlung von Krebserkrankungen eingesetzt werden.

Patentansprüche

1. Verbindungen der allgemeinen Formel U-V-W, wobei

5 U die Formel (I) aufweist,



wobei

10

A ein gegebenenfalls substituierter 5- oder 6-gliedriger Heteroaromat ist;

15

X ein Sauerstoffatom, ein Schwefelatom, eine Gruppe der Formel NR^{13} oder $\text{CR}^{14}\text{R}^{15}$ ist;

Y ein Sauerstoffatom, ein Schwefelatom oder eine Gruppe der Formel NR^{16} ist und

20

die Reste R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} und R^{16} unabhängig voneinander ein Wasserstoffatom, ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Heteroalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl-, Alkylcycloalkyl-, Heteroalkylcycloalkyl-, Hetero-

25

cycloalkyl-, Aralkyl- oder ein Heteroaralkylrest, oder zwei der Reste gemeinsam Teil eines Cycloalkyl- oder Heterocycloalkylringsystems sind,

V ein Linker und W ein Polymer ist.

2. Verbindungen nach Anspruch 1, wobei die Verbindung der Formel (I) Tubulysin A ist.

5

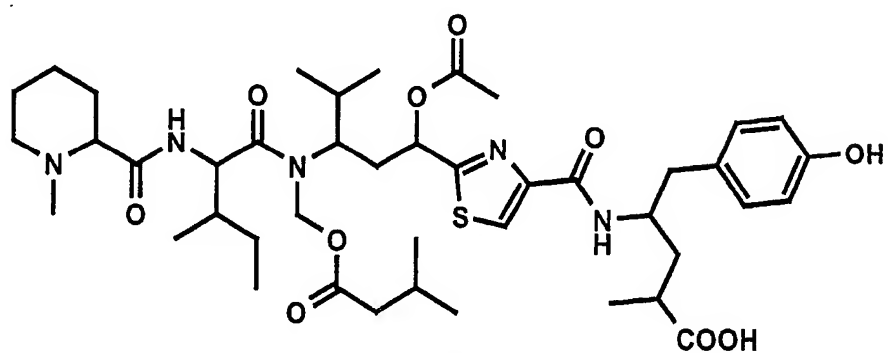
3. Verbindungen nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Polymer ein Polyethylenglycol (PEG) ist.

10

4. Verwendung eines Biokonjugats nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Behandlung von Krebserkrankungen.

Zusammenfassung

Die Vorliegende Erfindung betrifft neue Tubulysin-
konjugate (z. B. von Tubulysin A) sowie deren Verwendung
5 zur Behandlung von Krebserkrankungen.



Tubulysin A